

综述

黄鳝自然性反转的研究

陶亚雄* 林浩然

(中山大学生物学系, 广州 510275)

STUDIES ON THE NATURAL SEX REVERSAL OF PADDYFIELD EEL, *MONOPTERUS ALBUS*

Tao Yaxiong and Lin Haoran

(Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

关键词 自然性反转, 黄鳝, 促性腺激素, 性类固醇激素

Key words Natural sex reversal, Paddyfield eel, Gonadotropins, Sex steroids

黄鳝特别引起生物学家的兴趣, 因为它是一种生活在淡水中具有性反转现象的硬骨鱼类。刘建康(1944)发现在野外采集的标本中幼鱼全为雌性, 体长 36 cm 以下雌性占大多数, 体长大于 40 cm 多为雄性, 也发现有中间性个体, 因而认为黄鳝自幼体到第一次性成熟为雌体, 产卵之后变为雌雄间体并最终变为雄体^[1]。

Liem(1963) 通过定期解剖实验室饲养的已知年龄的鳝鱼标本近 900 尾, 发现每尾鳝鱼在其繁殖周期开始时均为雌性, 雄鱼只有通过性反转产生^[2]。Okada(1966)^[2]、Chan 和 Phillips (1967 a)^[3] 也分别在日本和粤港澳地区的鳝鱼标本中证实了刘建康的发现。Chan 等(1972)建立的性腺活检技术发现同一尾鱼顺序经过雌性、中间性和雄性 3 个阶段, 完全证实了黄鳝具有自然性反转现象^[4]。最近王良臣等研究了天津地区黄鳝标本的体长和性比之间的关系, 亦表明黄鳝有性反转^[5]。

黄鳝的所有个体决定性别的成分是相同的, 无遗传上的雌性与雄性之分, 黄鳝是一种发育上的而不是遗传上的雌雄异体^[1]。黄鳝独特的性别类型引起了许多学者的兴趣, 特别是与脊椎动物如何从雌雄同体进化出雌雄异体可能的关联^[6]和有关脊椎动物性别决定和性别分化的机制等问题^[5,13]。

(一) 早期关于黄鳝性反转的假说

根据雌鱼较小、雄鱼较大这一观察, Bullough(1947) 提出黄鳝性别的顺序变化可能

* 现在通讯地址: 中国科学院动物研究所内分泌研究室, 北京 100080。
1990 年 5 月 12 日收到。

是由与某一特定大小的内在生理变化所诱发^[10]。但是没有令人信服的实验证据支持这种“大小假说”，如在一定条件下养殖的雌鱼并不会在同一大小(所谓临界大小)性反转。此外，这一假说的预言，即空间上隔离的群体会在相同大小性反转，被证实是不正确的：天津、重庆和 Bandung 地区性反转的临界大小分别为 40 cm^[11]、20 cm^[12] 和 16 cm^[13]。

Liem(1963) 提出雌鱼在达到一临界发育阶段性反转^[14]，但并未见有关发育阶段对性反转和性成熟的影响的相互关系的报道。有人提出营养状况以某种方式影响性反转^[15,17]。Liem(1963) 指出黄鳍的自然生境即沼泽、池塘和稻田经常处于干燥状态，食物可得性小，而这种营养不良可能产生性反转^[15]。王良臣等(1985)认为在低纬度地区，水温较高，生长季节较长，食物较易获得，因而成熟较早，性反转也较早^[11]。Liem(1968) 推测温度影响黄鳍性反转，但并没有提供任何实验证据^[10,16]。当我们考虑到黄鳍的性反转是繁殖后发生的^[7,17]，即只有在产卵后才会性反转，可以说至少在天然情况下，黄鳍必须达到一临界发育阶段，即卵巢的成熟和产卵，才能性反转。然而，发育阶段和营养等外因必须通过影响内分泌系统(内因)而产生作用。直接引发性反转的因素应是下丘脑-脑垂体-性腺轴的某种或某些激素。

(二) 性类固醇激素诱发黄鳍性反转的可能性研究

性反转包括原分散的雄性原始生殖细胞增殖转化为生精小管并使卵细胞解体^[2,12]。精原细胞总是首先出现于生殖褶的内间皮而不是外间皮^[3]；原始生殖细胞的命运由它们在生殖褶中的位置所决定，发育为卵原细胞的原始生殖细胞位于生殖褶的外周部分，而那些后来发育为精原细胞的原始生殖细胞则在生殖褶的较中间部分^[4]。

性腺结构的改变伴随着间质细胞的发育^[7]。性腺组织在离体条件下的类固醇生物合成能力^[9]和 3 β -羟类固醇脱氢酶 (3 β -HSD)^[24,25] 均表明性反转过程中间质细胞的发育，使雄激素的生产显著增加^[8]。超微结构研究也表明间质细胞是雄激素生物合成的主要场所^[28]。

弱的 3 β -HSD 活性也偶然在黄鳍卵巢中少数小间质细胞中观察到^[25]，提示这些间质细胞的发育可能先于精小叶的发育，因此它们生产的雄激素可能诱发性反转的始动^[25]。用性腺活检和激素注射或埋植，对性类固醇激素在性反转中的作用进行了广泛的研究^[11,13,22]。使用了各种雄激素和处于各种繁殖季节的个体，发现所用的剂量均不能诱导黄鳍提前性反转，即使在用氯化钾阻断卵巢类固醇生成而消除了内源雌激素对精原细胞可能的抑制作用后，也表明外源雄激素不能诱发性反转，并不是因为内源雌激素的抑制作用。因此虽然形态学的^[7,24,25]和离体的^[9,11]证据均表明伴随性反转，类固醇分泌型式发生了变化，但这种变化是性反转起动的结果而不是原因。我们的结果进一步证实了这一点(另文发表)。

(三) 促性腺激素诱发黄鳍性反转的可能性研究

O 和 Chan(1974b) 对黄鳍脑垂体进行了组织化学和细胞学的详细研究，用七种组织化学方法阐明了有三种嗜碱性细胞，根据细胞及其核大小和形状以及细胞质的染色特性等可区分 TSH 和 GTH 细胞^[20]。研究表明 TSH 细胞的季节性变化与繁殖周期虽有相

关,但它并无两性异型,4—8月雌鱼和雄鱼的TSH细胞和甲状腺都相对活跃,都可能与繁殖前和繁殖时期的代谢率增加有关^[19]。考虑到黄鳝的性反转是繁殖后发生的^[7,17],TSH细胞不可能与性反转过程直接相关^[19]。

根据细胞及其核大小、糖蛋白颗粒染色区域的程度^[19]以及对外源激素处理的反应等方面的差异可以区分出黄鳝有两种GTH细胞^[4]。在雄鳝,睾酮和LH处理后6型细胞退化,可能是通过负反馈作用;而在雌鳝,睾酮处理后与卵巢滤泡黄体化的同时7型细胞退化引自文献[13]。Chan等(1975)提出6型细胞可能分泌一种LH类GTH,而7型细胞可能分泌一种FSH类GTH^[11]。但王良臣等(1986)观察到在唯一一种GTH细胞内有两种分泌颗粒,小颗粒在产卵期突然消失,而大颗粒没有明显变化。因此他们认为小颗粒可能在产卵中起重要作用,并推测它能分泌LH和FSH两种激素^[2]。关于GTH细胞的种类和功能,有必要进一步进行免疫组织化学和免疫电镜方面的研究。

研究黄鳝GTH的一个很有意义的结果是LH类和FSH类活性均已观察到,而且在性反转时FSH/LH比值有明显的变化^[11,13,18]。用鼠抗坏血酸排除(OAAD)试验测定LH活性,用鼠卵巢增重试验测定FSH活性,发现雌鱼LH活性远大于雌雄间体和雄鱼,后两者的LH活性低至不能用OAAD试验测出,而雄鱼和雌雄间体的FSH活性则略高于雌鱼^[11]。因此雄鱼的垂体含较高的FSH和较低的LH,雌鱼则含较高的LH和较低的FSH^[11]。此外,用神经氨酸苷酶和尿素分别使FSH和LH类活性选择性地失活法也证实了黄鳝有两种GTH^[13]。总之,黄鳝GTH的活性和作用方式均呈现二元性^[13]。

对黄鳝GTH进行的酶学和化学研究表明它是含二硫键的糖蛋白^[13,18]。它刺激超排卵鼠的卵巢生产环腺苷酸,表明LH类活性是通过环腺苷酸影响类固醇的生产,其中可能包括腺苷酸环化酶的活化和磷酸二酯酶的抑制^[13]。

黄鳝GTH可促进离体孕兔黄体细胞转化胆固醇为孕烯醇酮和孕酮,而增加成熟雄鼠血浆睾酮水平,刺激一些依赖雄激素的参数^[13,18],这表明黄鳝GTH可能与哺乳类GTH的分子结构非常相似,或者与哺乳类靶器官GTH受体系统有强的生物亲和力^[13]。此外,黄鳝GTH对鸟类、爬行类、两栖类性腺均有作用。因此黄鳝是唯一的硬骨鱼类,其GTH生物活性与哺乳类GTH相似^[18]。但是有一个很重要的问题尚未研究,就是确定黄鳝腺垂体在性反转引发中所起的确切作用。因为黄鳝口腔上皮可作空气呼吸用,血管发达,施行活体垂体切除不大可能。故纯化的垂体GTH与其抗体联合使用应能确证黄鳝GTH是否能诱发性反转这个问题。

给雌鳝注射哺乳类LH,间质细胞的发育受到明显刺激,并显示出很强的3 β -HSD活性,大多数动物有活跃的精子形成。因此Tang等(1974b)认为黄鳝垂体在自然性反转的引发中起重要作用^[23]。我们发现鲤鱼垂体匀浆只能促进黄鳝卵细胞成熟,而不能诱导提前性反转;黄鳝垂体匀浆和血清与抗鲤鱼GTH或其 β -亚单位血清均没有免疫交叉反应,而鲑鱼促性腺激素释放激素类似物sGnRH-A能诱导黄鳝提前性反转并达到雄性成熟,推测其主要机理是通过增加内源GTH分泌使血液中的GTH超过诱发性反转所需的阈值而始动性反转,长期的高GTH水平进一步刺激雄性生殖细胞的发育和成熟(另文发表)。总之,黄鳝脑垂体分泌的GTH可能诱发性反转。

本文综述了自黄鳝性反转现象的发现后近半个世纪以来的研究成果, 包括性腺和垂体的形态和分泌功能, 强调了下丘脑-垂体轴在性反转的引发中的重要作用。而要深入研究黄鳝 GTH 在性反转中的作用和黄鳝垂体 GTH 分泌的神经内分泌调控作用, 必须建立黄鳝 GTH 的放射免疫测定 (RIA)。我们用鲤鱼 GTH 或其 β 亚单位抗血清没能建立一个黄鳝 GTH 的异源 RIA。但是考虑到黄鳝与四足类在很多方面相似, 黄鳝的两种 GTH 与哺乳类 GTH 的生物活性有许多相似点, 用哺乳类 LH 和 FSH 抗体很可能能够建立黄鳝 GTH 的异源 RIA。若能建立黄鳝 GTH 的 RIA, 就可详细研究黄鳝 GTH 分泌的调控。我们的间接证据表明黄鳝 GTH 分泌受下丘脑 GnRH 刺激, 但对多巴胺在黄鳝是否也是一种促性腺激素释放抑制因子则尚不清楚(另文发表), 而这已在许多鲑科和鲤科鱼类被证实。更重要的是, 弄清黄鳝卵细胞的成熟和性反转过程中 GTH 的变化对探讨腺垂体在性反转中的作用有重要意义。因为研究“控制同一个体雌雄生殖细胞的顺序表达和成熟的机制对了解性别决定的内在和外在控制有很大意义”^[6], 因此研究黄鳝性反转的内分泌机制有特殊的理论意义, 值得重视。

参 考 文 献

- [1] 王良臣、刘修业、阎家本、杨竹舫, 1985. 黄鳝生物学因素关系的研究。鱼类学论文集,(第四辑): 147—153。
- [2] 王良臣、阎家本、刘修业, 1986. 黄鳝垂体腺嗜碱性细胞组织化学的研究。鱼类学论文集,(第五辑): 29—34。
- [3] 刘建康、顾国彦, 1951. 鳟鱼性别逆转时生殖腺组织的改变。中国水生生物学汇报,(2): 85—109。
- [4] Bullough, W. S., 1947. Hermaphroditism in the lower vertebrates. *Nature*, **160**: 9—11.
- [5] Chan, S. T. H., 1970. Natural sex reversal in vertebrates. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*, **B259**: 59—71.
- [6] Chan, S. T. H. & O. W.-S., 1981. Environmental and non-genetic mechanisms in sex determination. In *Mechanisms of Sex Differentiation in Animals and Man* (C. R. Austin and R. G. Edwards, eds), pp. 55—113. New York, Academic Press.
- [7] Chan, S. T. H. & Phillips, J. G., 1967a. The structure of the gonad during natural sex reversal in *Monopterus albus* (Pisces: Teleostei). *J. Zool. Lond.*, **151**: 129—141.
- [8] Chan, S. T. H. & Phillips, J. G., 1967b. Seasonal changes in the distribution of gonadal lipids and spermatogenic tissue in the male phase of *Monopterus albus* (Pisces: Teleostei). *J. Zool. Lond.*, **152**: 31—41.
- [9] Chan, S. T. H. & Phillips, J. G., 1969. The biosynthesis of steroids by the gonads of the ricefield eel *Monopterus albus* at various phases during natural sex reversal. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **12**: 619—636.
- [10] Chan, S. T. H. & Yeung, W. S. B., 1983. Sex control and sex reversal in fish under natural conditions. In *Fish Physiology* (W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, eds), vol. IXB, pp. 171—232. New York, Academic Press.
- [11] Chan, S. T. H., O. W.-S. & Hui, S. W. B., 1975. The gonadal and adenohypophyseal functions of natural sex reversal, In *Intersexuality in the Animal Kingdom* (R. Reinboth, ed), pp. 201—221. Berlin and New York, Springer-Verlag.
- [12] Chan, S. T. H., Wright, A & Phillips, J. G., 1967. The atretic structures in the gonads of the ricefield eel (*Monopterus albus*) during natural sex reversal. *J. Zool. Lond.*, **153**: 527—539.
- [13] Chan, S. T. H., Ng, T. B., O. W. S. & Hui, W. B., 1977. Hormones and natural sex succession in *Monopterus*. In *Biological Research in Southeast Asia* (B. Lofts and S. T. H. Chan, eds), pp. 101—120. Hong Kong, University of Hong Kong.
- [14] Chan, S. T. H., O. W.-S., Tang, F. & Lofts, B., 1972. Biopsy studies on the natural sex reversal in *Monopterus albus* (Pisces: Teleostei). *J. Zool. Lond.*, **167**: 415—421.
- [15] Liem, K. F., 1963. Sex reversal as a natural process in the Synbranchiform fish *Monopterus albus*. *Copeia* **1963**: 303—312.
- [16] Liem, K. F., 1968. Geographical and taxonomic variation in the pattern of natural sex reversal in the teleost fish order Synbranchiformes. *J. Zool. Lond.*, **156**: 225—238.
- [17] Liu, C. K., 1944. Rudimentary hermaphroditism in the symbranchoid eel, *Monopterus javanensis*. *Sinensis*

15: 1—8.

- [18] Ng, T. B., Lee, Y. H. & Chan, S. T. H., 1986. Pituitary extract of the ricefield eel *Monopterus albus* (Synbranchidae, Teleostei) exhibits gonadotropic activity in the classes Mammalia, Aves, Reptilia and Amphiibia. *Comp. Biochem. Physiol.*, **84A**: 371—381.
- [19] O, W.-S. & Chan, S. T. H., 1974a. A study on the thyroid gland and the TSH cells in the pituitary of ricefield eel, *Monopterus albus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**: 99—112.
- [20] O, W.-S. & Chan, S. T. H., 1974b. A cytological study on the structure of the pituitary gland of *Monopterus albus* (Zuiwei). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**: 208—222.
- [21] Okada, Y. K., 1966. Observations on the sex reversal in the symbranchoid eel, *Fluta alba* (Zuiwei). *Proc. Japan Acad.*, **42**: 419—496.
- [22] Tang, F., Chan, S. T. H. & Loftis, B., 1974a. Effect of steroid hormones on the process of natural sex reversal in the ricefield eel, *Monopterus albus* (Zuiwei). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**: 227—241.
- [23] Tang, F., Chan, S. T. H. & Loftis, B., 1974b. Effect of mammalian luteinizing hormones on the natural sex reversal of the ricefield eel, *Monopterus albus* (Zuiwei). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**: 227—241.
- [24] Tang, F., Loftis, B. & Chan, S. T. H., 1974c. 3β -Hydroxysteroid dehydrogenase activities in the ovary of the ricefield eel, *Monopterus albus* (Zuiwei). *Experientia*, **30**: 316—317.
- [25] Tang, F., Chan, S. T. H. & Loftis, B., 1975. A study on the 3β -and 17β -hydroxysteroid dehydrogenase activities in the gonads of *Monopterus albus* (Pisces, Teleostei) at various sexual phases during natural sex reversal. *J. Zool. Lond.*, **175**: 571—580.
- [26] Yeung, W. S. B. & Chan, S. T. H., 1987. The plasma sex steroid profiles in the freshwater, sex-reversing teleost fish, *Monopterus albus* (Zuiwei). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **65**: 233—242.
- [27] Yeung, W. S. B., Adal, M. N., Hui, W. S. B. & Chan, S. T. H., 1985. The ultrastructural and biosynthetic characteristics of steroidogenic cells in the gonad of *Monopterus albus* (Teleostei) during natural sex reversal. *Cell Tissue Res.*, **239**: 383—394.